

Aus dem II. Physiologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an der Macula Utriculi beim Goldfisch (*carassius auratus*)

Inauguraldissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Erika Klüpfel
aus Wiesbaden

Mainz 1975

Aus dem II. Physiologischen Institut
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an der Macula Utriculi beim Goldfisch (*carassius auratus*)



Inauguraldissertation
Zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Erika Klüpfel
aus Wiesbaden

Mainz 1975



Fachbereichsdekan: Professor Dr. J. Grote

Referent: Professor Dr. von Baumgarten

Korreferent: Professor Dr. Harth

Einzelne Aufträge

1. Einzelne Aufträge	1
2. Einzelne Aufträge	2
3. Einzelne Aufträge	3
4. Einzelne Aufträge	4
5. Einzelne Aufträge	5
6. Einzelne Aufträge	6
7. Einzelne Aufträge	7
8. Einzelne Aufträge	8
9. Einzelne Aufträge	9
10. Einzelne Aufträge	10
11. Einzelne Aufträge	11
12. Einzelne Aufträge	12
13. Einzelne Aufträge	13
14. Einzelne Aufträge	14
15. Einzelne Aufträge	15
16. Einzelne Aufträge	16
17. Einzelne Aufträge	17
18. Einzelne Aufträge	18
19. Einzelne Aufträge	19
20. Einzelne Aufträge	20
21. Einzelne Aufträge	21
22. Einzelne Aufträge	22
23. Einzelne Aufträge	23
24. Einzelne Aufträge	24
25. Einzelne Aufträge	25
26. Einzelne Aufträge	26
27. Einzelne Aufträge	27
28. Einzelne Aufträge	28
29. Einzelne Aufträge	29
30. Einzelne Aufträge	30
31. Einzelne Aufträge	31
32. Einzelne Aufträge	32
33. Einzelne Aufträge	33
34. Einzelne Aufträge	34
35. Einzelne Aufträge	35
36. Einzelne Aufträge	36
37. Einzelne Aufträge	37
38. Einzelne Aufträge	38
39. Einzelne Aufträge	39
40. Einzelne Aufträge	40
41. Einzelne Aufträge	41
42. Einzelne Aufträge	42
43. Einzelne Aufträge	43
44. Einzelne Aufträge	44
45. Einzelne Aufträge	45
46. Einzelne Aufträge	46
47. Einzelne Aufträge	47
48. Einzelne Aufträge	48
49. Einzelne Aufträge	49
50. Einzelne Aufträge	50
51. Einzelne Aufträge	51
52. Einzelne Aufträge	52
53. Einzelne Aufträge	53
54. Einzelne Aufträge	54
55. Einzelne Aufträge	55
56. Einzelne Aufträge	56
57. Einzelne Aufträge	57
58. Einzelne Aufträge	58
59. Einzelne Aufträge	59
60. Einzelne Aufträge	60
61. Einzelne Aufträge	61
62. Einzelne Aufträge	62
63. Einzelne Aufträge	63
64. Einzelne Aufträge	64
65. Einzelne Aufträge	65
66. Einzelne Aufträge	66
67. Einzelne Aufträge	67
68. Einzelne Aufträge	68
69. Einzelne Aufträge	69
70. Einzelne Aufträge	70
71. Einzelne Aufträge	71
72. Einzelne Aufträge	72
73. Einzelne Aufträge	73
74. Einzelne Aufträge	74
75. Einzelne Aufträge	75
76. Einzelne Aufträge	76
77. Einzelne Aufträge	77
78. Einzelne Aufträge	78
79. Einzelne Aufträge	79
80. Einzelne Aufträge	80
81. Einzelne Aufträge	81
82. Einzelne Aufträge	82
83. Einzelne Aufträge	83
84. Einzelne Aufträge	84
85. Einzelne Aufträge	85
86. Einzelne Aufträge	86
87. Einzelne Aufträge	87
88. Einzelne Aufträge	88
89. Einzelne Aufträge	89
90. Einzelne Aufträge	90
91. Einzelne Aufträge	91
92. Einzelne Aufträge	92
93. Einzelne Aufträge	93
94. Einzelne Aufträge	94
95. Einzelne Aufträge	95
96. Einzelne Aufträge	96
97. Einzelne Aufträge	97
98. Einzelne Aufträge	98
99. Einzelne Aufträge	99
100. Einzelne Aufträge	100

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

an der

Macula utriculi beim Goldfisch (*carassius auratus*)

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an der Macula utriculi beim Goldfisch (*carassius auratus*)

<u>Gliederung:</u>	<u>Seite</u>
A: Problemstellung	2
B: Relevante Angaben aus der Literatur	3
C: Material	9
D: Methodik	9
1) Fischpräparation	9
2) Aufbereitung zur Rasterelektronenmikroskopie (REM)	12
3) REM-Beobachtungs- und Auswertetechnik	13
E: Ergebnisse	16
1) Allgemeine Topographie des Goldfisches	16
2) Die Macula utriculi des Goldfisches	18
a) Lokalisation im Fisch	18
b) Lage im Utriculus	19
c) Größe und Form (Beschreibung)	20
d) Relative Lage zum Otolithen	20
e) Relative Lage zur Richtung der Schwerkraft	20
3) Das maculäre Epithel	21
a) Das Sinnesepithel	21
aa) Der Übergang vom Randepithel zum Sinnesepithel	21
ab) Die Sinneszellen mit ihren Sinneshaaren (Beschreibung)	21
ac) Die Verschiedenen Typen von Sinneshaaren	23
ad) Die Verteilung der Sinneshaare auf der Macula	24
ae) Die Dichte der Sinneshaare	27
af) Die Polarisationslinie: Begriffserläuterung	30
Die Lage auf der Macula	32
Die Lage zum Otolithen	33
b) Das Randepithel	36
4) Der Otolith (Form, Größe und Beschreibung)	36
F: Diskussion der Ergebnisse	39

A. Problemstellung

In dieser Arbeit soll mit Hilfe des Rasterelektronenmikroskops (REM) die Ultrastruktur der Oberfläche der Macula utriculi beim Goldfisch untersucht werden. Von besonderem Interesse sind dabei die Haarfortsätze der Sinneszellen: ihr Aussehen, ihre Anordnung und ihre Differenzierung untereinander, wobei es sich möglicherweise um eine funktionelle Differenzierung handelt, im Sinn einer statischen Zweckmäßigkeit, und was noch wichtiger ist, einer mechanischen und elektrischen Polarität. Im Zusammenhang damit werden die Macula utriculi und der dazugehörige Utriculolith (Otolith) auch makroskopisch und bezüglich ihrer Lage und Relation beschrieben.

Wenn es auch eine solche Arbeit über die Macula utriculi des Goldfisches noch nicht gibt, so wurden doch schon ähnliche Untersuchungen an Fischen, Fröschen, Vögeln und Säugetieren durchgeführt und publiziert. (Literatur 3, 4, 5, 7, 11, 12, 14, 15, 21, 22, 23).

B. Relevante Angaben aus der Literatur

In seinen Studien über die Otolithen der Knochenfische schreibt Fritz Werner (22) im Abschnitt über die Methoden zur Klärung der Wirkungsweise der Otolithen: "Die zuverlässigste Methode ist vorläufig eine genaue morphologische Beschreibung des Otolithenapparates mit Verwendung histologischer Experimente und die Folgerung wie dieser Apparat möglicherweise funktionieren kann und wie nicht."

Das war 1928 - inzwischen ist viel auf diesem Gebiet geforscht und geschrieben worden, und es sind einige neue Theorien über die mögliche Funktion des statischen Vestibulärsystems aufgestellt worden.

Werner (22) selbst hat verschiedene Fischarten untersucht und tabellenartig deren Lagena, Sacculus und Utriculus mit den dazugehörigen Otolithenapparaten beschrieben und ihre Unterschiede und Gemeinsamkeiten aufgezeigt. Im Detail sind hier die Formen der Maculae, die Dicken der Sinnes- und Randepithelien und deren Relation zum jeweiligen Otolithen untersucht worden.

Was den Utriculus betrifft, so hat Werner unter Einführung einer neuen Nomenklatur wichtige Details unterschieden: Die "Rampa" als den Anteil der Macula, der die vordere und laterale Wand des Utriculus bedeckt, der "Cotilus", der den maculären Utriculusboden bildet. Entsprechend sind "Ramparium" und "Cotilarium" die dazugehörigen Macula- bzw. Otolithenanteile. Eine Einkerbung am Otolithen wurde "Sulcus" und die dem Cotilus zugewandte Fläche des Otolithen "Putamen" genannt. Diese Einteilung trug schon 1928 zur besseren Verständigung in diesem Forschungsgebiet bei.

Werner vertrat auch schon damals die Ansicht, daß die Rampa der bedeutendste Teil der Macula sei. Als Grund dafür nannte er die dort vergleichsweise enorme Epitheldicke und die Tatsache, daß die Rampa bei allen Fischarten vom Otolithen bedeckt ist.

Werner verwarf sowohl die bisherige tangentielle Gleittheorie, als auch die Druck- und Zugtheorien des statischen Organs, da diese nicht den morphologischen Gegebenheiten gerecht würden: der Utriculusotolith sei aufgrund seiner Aufhängung nicht in der Lage, sich ausreichend gleitend zu verschieben und könne wegen Fehlens jeden direkten Kontaktes mit dem Maculaepithel auch weder eine Druck- noch eine Zugwirkung auf die Sinneshäärchen ausüben.

Versuche von Maxwell (1923) (19), bei denen der Utriculusotolith an Hechten mittels eines Wattebauschs experimentell bewegt wurde, ergaben sogar, daß die dadurch hervorgerufenen Augenbewegungen entgegengesetzt als nach der Gleittheorie erwartet gerichtet waren. Werner schlug daher eine neue Hypothese vor, nach der hydrostatische Druckdifferenzen der Endolympe unter dem Otolithen zu Erregungsdifferenzen auf verschiedenen Anteilen des Sinnesepithels führen.

Im Zusammenhang damit erscheint es umso wichtiger, im REM (Rasterelektronenmikroskop) die Ultrastruktur der Sinneshäärchen in verschiedenen Arealen des infrage kommenden Epithelabschnittes der Rampa zu untersuchen.

Zur Zeit seiner Arbeiten stand Werner aber nur ein Lichtmikroskop zur Verfügung.

Erst Lowenstein und Wersäll (11) haben 1959 mit Hilfe des Elektronenmikroskopes die Ultrastruktur der Sinneshaare von *Raja Clavata* erforscht. Sie fanden eine morphologische Asymmetrie; das in jedem Haarbüschel hervorstechende Sinneshaar, das "Kinocilium", könnte sich aufgrund seiner Ähnlichkeit mit bekannten Bewegungscilien wie eine umgekehrte bewegliche Struktur (mobile structure in reverse) verhalten, nämlich nach Deformation eine elektrische Änderung verursachen. Dieses Kinocilium, so wurde gefunden, stünde immer nur auf einer Seite der übrigen Sinneshaare, im Fall der crista Ampullari des horizontalen Bogenganges stünden alle in Richtung Utriculus. Man könnte also von einer Ausrichtung oder Polarisierung der Sinneszellen sprechen.

Diese Entdeckung von Lowenstein und Wersäll gab der Erforschung des Labyrinthes neuen Antrieb.

1962 hat Engström (3) die Sinnesepithelien mit Haarzellen von Meerschweinchen und Seidenäffchen (squirrel monkey) untersucht, mit Schwerpunkt: Struktur der Stereocilien und des Kinociliums und deren Verhältnis zueinander. Zunächst konnte die Anordnung und Befestigung der Sinneshaare in der Cuticularplatte des Corti'schen Organs aufgeklärt werden. Über die Sinneshaare des Vestibularsystems wird geschrieben, sie seien viel länger als die der Cochlea und immer treppenförmig angelegt. Das Kinocilium sei das längste Sinneshaar, die von ihm am weitesten entfernten Stereocilien die kürzesten.

Von großer Bedeutung ist die Aussage, daß auf der Macula von Sacculus und Utriculus die Kinocilien alle dieselbe Ausrichtung haben bis zu einer bestimmten Linie, an der sich diese Ausrichtung genau umkehrt. Offensichtlich, so Engström, sei dies eine funktionelle Polarisation der Macula.

Später berichteten Lowenstein, Osborne und Wersäll 1964 (12) von der Polarisation der Sinneshaare auf den Cristae der Bogengänge als auch auf den Maculae von Utriculus und Sacculus: eine Polarisationsumkehr entlang einer Linie wird beschrieben. Außerdem wurden vor allem Sinneszellen und Stützzellen genauer erforscht: ihre Ultrastruktur, die Verankerung der Sinneshaare in der Cuticularplatte und die Innervation der Haarzellen. In der Diskussion wurde ein Zusammenhang der Stellung des Kinociliums zur Reizbeantwortung der dazugehörigen Sinneszelle (excitatorisch, inhibitorisch) hervorgehoben. Ablenkung des Kinociliums hinweg von den Stereocilien bewirke Erregung, Ablenkung zu den Stereocilien eine Hemmung der entsprechenden Sinneszelle. Es wurde deshalb die Vermutung aufgestellt, daß das Kinocilium und nicht die Stereocilien das Verbindungsglied zwischen Reiz und Reizrezeptor sei.

Flock (4) erweiterte im selben Jahr (1964) diese Studien auf die Macula utriculi des Fisches *Lota vulgaris* (die Quappe). Nach Beschreibung der allgemeinen Strukturen der Macula erfolgte eine Analyse der Feinstruktur der einzelnen Sinneszellen, ihrer Fortsätze und der afferenten und efferenten Innervation der Sinneszellen. Die Sinneshaare bei *Lota* lägen in Büscheln zusammen: 40 - 60 Stereocilien und ein Kinocilium stünden in ganz bestimmten Winkeln zueinander. Als Besonderheit wurde die gelegentliche Abwesenheit des Kinociliums erwähnt, sowie doppelte Kinocilien oder vermehrte Stereocilien, als Hufeisen um das Kinocilium herum postiert. Allerdings handelte es sich dabei eindeutig um Ausnahmen.

Was die Orientierung der Sinneshaare betrifft, so zeichnete der Autor folgende Beobachtung auf: von einem Anteil etwa in der Mitte der Macula gehe die Orientierung des Kinociliums aus, und zwar im cranialen Anteil nach cranial, im lateralen nach lateral und im caudalen Bereich nach caudal. Es würde also eine Art Halbkreis gebildet. Dem gegenüber stünden in einer Zone von 0,15 mm vom Rand her die Kinocilien alle zur Mitte hin gerichtet, also den anderen genau entgegen. Dabei gäbe es zwischen zwei benachbarten Haarbüscheln nur Abweichungen von $10 - 15^{\circ}$. Eine Zeichnung der Sinneshaarorientierung ist der Arbeit eingegliedert. Diese Polarisationslinie wurde von Flock in eine Theorie der gleitenden Bewegung des Otolithen als adäquaten Reiz auf das Sinnesepithel einbezogen und als Trennungslinie für Rezeptoren verschiedener Zuständigkeit gesehen. Für Aufwärts- oder Abwärtsbewegungen des Otolithen sei jeweils eine spezielle Gruppe von Sinneszellen vorhanden und dementsprechend ausgerichtet.

In einer Folgearbeit von Wersäll, Flock und Lundquist (23) die 1965 erschien, wurden Labyrinth von Fröschen, Fischen, Vögeln und Säugern untersucht. Es bestätigte sich dabei die Sinneshaarorientierung im Vestibularsystem und es wurden sowohl die Ähnlichkeiten als auch die Unterschiede der Spezies untereinander aufgezeigt. Dabei wurde aber wieder betont, daß die Funktion des Kinociliums immer noch ungenügend geklärt sei.

1967 schrieb O. Lowenstein (13) über die Verwandtschaft zwischen akustischem und Seitenlinienorgan. Auch hierbei wurde eine hohe Wahrscheinlichkeit für die Verbindung der Kinociliumorientierung mit der excitatorischen-inhibitorischen Reizreaktion bestätigt, was wenigstens für die Bogengänge gelte.

1968, in der morphologischen Untersuchung des Labyrinthes vom Flußneunauge (*Lampetra fluviatilis*) beschrieb Lowenstein zusammen mit Osborne und Thornhill (14) auch hier das Kinocilium und die Stereocilien als Sinnesfortsätze wie in den anderen bisher untersuchten Spezies. Als Besonderheit dieser Arbeit wurden zwei Typen von Haarbüscheln unterschieden:

Typ 1 habe ein 3-5 μ langes Kinocilium und sei wenig länger als die ihm benachbarten Stereocilien,

bei

Typ 2 sei das Kinocilium etwa 10 μ lang, gerade und steif und die Stereocilien seien bedeutend kürzer als die vom Typ 1. Sie seien nur 1,5 μ lang und auffallend klein in Relation zum Kinocilium.

Auch über die Lokalisation der beiden Typen wurde eine Aussage gemacht. Die Richtung des Kinociliums wird so beschrieben, daß sie im cranialen Teil unterschiedlich, im lateralen nach außen, am medialen Rand nach cranial und im centralen Anteil nach latero-cranial orientiert sei. Eine regelrechte Maculakarte veranschaulicht diese Beschreibung.

Lowenstein und Thornhill (15) untersuchten 1970 das Labyrinth von *Myxine*. Bei diesem Fisch gibt es keine eigentliche Macula utriculi, sondern stattdessen eine sogenannte Macula communis. Auch bei dieser Macula wurde die Sinneshaarorientierung erforscht, beschrieben und aufgezeichnet.

Zu den aktuellsten Arbeiten gehören die von Hillman und Lewis (7) und Frishkopf und Flock (5). Beide beschäftigen sich mit dem Labyrinth des Frosches.

Hillman und Lewis zeigen das Aussehen der Sinneshaare anhand von im REM gemachten Fotos. Im Fall des Frosches sind die längsten Stereocilien an ihrer Spitze miteinander und mit dem Kinocilium verwachsen. Aufgrund dieses Phänomens schließen Hillman und Lewis, die Reizaufnahme erfolge durch Hebeln dieser starren Einheit. Dies führe zu Deformationen im Bereich der Cuticularplatte, wodurch der Reiz auf die Sinneszelle übertragen würde.

Die Arbeit von Frishkopf und Flock (5) beinhaltet zunächst eine Strukturbeschreibung der Sinneszellen und ihrer Fortsätze im Frosch und betont damit wieder den Zusammenhang zwischen Orientierung der Sinneszellen, Reizreaktion und Potentialänderung der Nerven.

Immer wieder wird auf diesen Zusammenhang hingewiesen, eine bewiesene funktionelle Begründung für die Orientierung der Sinneszellen gibt es bis heute nicht.

Der Ratschlag Werner's bleibt somit heute noch gültig; denn was die Morphologie, insbesondere die Koppelung von Otolith und Sinnesepithel betrifft, so sind die vorhandenen Kenntnisse bis jetzt noch nicht ausreichend für ein volles Verständnis der funktionellen Zusammenhänge.

Es ist zu hoffen, daß mit der wachsenden Anzahl der elektronen-optischen Arbeiten am Vestibularepithel in den letzten Jahren (3,4,5,7,11,12,13,14,15,16,21,23) und mit der hier vorliegenden Arbeit zunächst weitere Informationen gewonnen werden, die eines Tages einem besseren Verständnis der funktionellen Organisation des Labyrinthes führen werden.

C. Material

Der Goldfisch, *carassius auratus*, gehört in der Einteilung der Fische in die 2. Sektion, die Knochenfische, die 7. Ordnung und davon in die 2. Unterordnung, Cyprinoide, die Karpfenfische. Es ist die asiatische Rasse der Karausche (*carassius vulgaris*). Als Jungtier ist er zunächst auch so gefärbt wie die Karausche, färbt sich aber später rotgold, wobei er das schwarze Pigment verliert, oder sogar weißsilbern, wenn auch das rote Pigment verschwindet (Wurnbach, 25).

Insgesamt wurden 14 Fische, d.h. 28 Fischkopfhälften präpariert, davon waren 13 Präparate brauchbar: 7 rechte und 6 linke. Die Fische waren zwischen 10 und 15 cm lang.

D. Methodik

1) Fischpräparation

Die zu präparierenden Fische wurden zunächst in etwa 0,0001%-iger Lösung von Methansulfat des Meta-Aminobenzoessäureäthylester der Firma Sandoz (MS 222) voll narkotisiert (8). In betäubtem Zustand wurde der Kopf hinter den Kiemen abgetrennt und sagittal in der Mittellinie in 2 Hälften geteilt. Nach Ablation des Cerebellums ist die mediale Seite des Labyrinths zugänglich, davon sichtbar und durch den Otolithen kenntlich vor allem der Utriculus (Abb. 1). Vorsichtig, damit keine mechanischen Verformungen am Labyrinth auftreten, wird alles unter dem Oberkiefer Liegende abgetrennt, dann rechts und links vom Labyrinth ein Schnitt nach lateral gelegt und das so begrenzte Knochenkissen des Utriculus von der Seitenwand des Fisches abgetrennt. Da der Knochen sehr dünn ist, gelingt dies leicht mit einer Schere. Schon dabei fließt ein Teil der Endolympe ab.

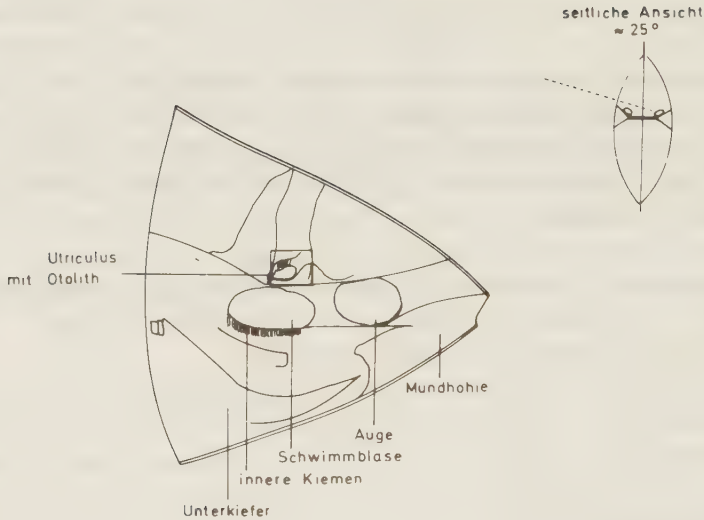


Abb. 1: Fischkopf von medial gesehen. Das Gehirn ist entfernt.

Unter 40-facher Vergrößerung des Präpariermikroskops (Abb. 2) wird dann mit feinsten Schere und Pinzette die den Otolithen bedeckende Membran hochgehoben und ringsum bis zu dem Teil abgeschnitten, der dem Knochen anliegt. Diese Membran ist das Dach der Kuppel, die vorher als die Endolymphe noch nicht abgeflossen war, prall über dem Otolithen stand. Durch das Abtrennen des Utriculus vom übrigen Labyrinth wurde der Endolymphsack eröffnet, so daß die Endolymphe abfloß und das Utriculusdach kollabierte. Es ist wichtig, die Membran ringsum abzuschneiden, denn da die Betrachtung im REM nur die Oberfläche betrifft, könnten überhängende Membranteile die Sicht auf das Sinnesepithel versperren. Allerdings kann man mit großer Vorsicht auch noch am fertigen Präparat Membranfetzen mit einer feinen Schere abtrennen.



Abb. 2: Vergrößerung des Utriculus mit Otolith von Abb. 1,
mediale Ansicht.

Ist die Membran ringsum abgeschnitten, so wird der Otolith, ohne ihn zu berühren, mit Fischringerlösung (24) aus einer Spritze mit feinsten Kanüle ausgeschwemmt, und zwar von seiner runden Seite her (von laterocranial in mediocaudale Richtung). Bei der ganzen Präparation muß mit großer Vorsicht, Sauberkeit und Sorgfalt vorgegangen werden, denn die feinen Strukturen sind leicht zu zerstören, gegeneinander verschieblich und verunreinigen leicht. Es passiert auch leicht, daß sich das Epithel ganz oder teilweise vom Knochen löst und sich dann beim Trocknen einrollt, so daß große Teile der Macula verdeckt bleiben. Es empfiehlt sich, das Präparat nicht nur auf den wichtigsten Teil zu beschränken; benachbartes Gewebe hält das Sinnesepithel der Macula in seiner Position und verhindert ein Einrollen. Wichtig ist auch, das Eintrocknen des Präparates zu vermeiden.

2) Aufbereitung zur Rasterelektronenmikroskopie

Das fertige Präparat wird in gepuffertem Glutaraldehyd fixiert. Es bleibt 2 - 3 Stunden in der Fixierlösung. Dann wird es mit der Pinzette vorsichtig herausgeholt und zur Waschung in der Acetonreihe (2o) in ein kleines Sieb gelegt. Von da ab ist es besonders wichtig, das Präparat niemals trocken werden zu lassen.

Folgende Lösungen wurden zur Aufbereitung der Präparate verwendet:

Fisch-Ringer-Lösung (nach Wolf 24)

NaCl	7,25 g
KCL	0,38 g
CaCl ₂	0,162 g
MgSO ₄ x 7 H ₂ O	0,23 g
NaHCO ₃	1,0 g
NaH ₂ PO ₄ x 2 H ₂ O	0,41 g
Glucose	1,0 g

Phosphatpuffer für Glutardialdehydfixierung

- A. 0,1 m Na₂HPO₄ (= 7,1 g Na₂HPO₄ wasserfrei)
(= 8,9 g Na₂HPO₄ nicht wasserfrei)
ad 500 ml Aqua dest
-
- B. 0,1 m KH₂PO₄ (= 6,8 KH₂PO₄)
ad 500 ml Aqua dest)
-
- C. 0,1 m Phosphat-Puffer (7 - 8 Teile Lsg. A + 2 - 3 Teile Lsg. B).
Ph soll 7,2 - 7,4 betragen und wird mit KOH eingestellt und mit
Lackmuspapier bestimmt.
-
- D. 25 % Glutaraldehydlösung (Merck)
-

Lösung für die Fixierung

2 Teile Lösung C + 1 Teil Lösung D + 1 Teil Aqua dest

(nach Reimer und Pfefferkorn 2o)

Die Acetonreihe (20) besteht aus 30%, 50%, 70%, 95% 100%-igem Aceton in Wasser. In jedem Bad liegt das Präparat 15 Min. und wird jeweils von der niedrigeren in die höhere Konzentration weitergegeben. Im 100%-igen Aceton liegt das Präparat zunächst 15 Min., dann in einem frischen Bad mit 100%-igem Aceton noch einmal 30 Min. Danach ist es für die Trocknung der "Kritischen Punkt-Methode" fertig (6). Bei dieser relativ neuen Methode besteht der große Vorteil, daß im Gegensatz zur Lufttrocknung an der Oberfläche des Präparates keine Spannungen auftreten, die es zerreißen könnten. Die Methode beruht auf der Eigenschaft einiger flüssiger bzw. gasförmiger Stoffe, bei einem bestimmten Druck und einer bestimmten "kritischen" Temperatur der Stoffe abrupt vom einen in den anderen Zustand überzugehen. Dabei treten am Präparat keine der sonst für Zustandsänderungen üblichen Spannungsänderungen auf. Es wird außergewöhnlich geschont. Das so getrocknete Präparat wird dann auf genormte Objektträger mit Leitsilber aufgeklebt (die elektrische Leitung durch Präparatoberfläche, Leitsilber und Objektträger muß zur Betrachtung im REM gewährleistet sein). Beim Aufkleben ist zu beachten, daß die Präparate möglichst glatte Unterflächen haben und so immer im gleichen Winkel zum Träger stehen. Auf diesen Trägern werden die Präparate dann mit Gold bedampft. Dabei ist die Dosierung sehr entscheidend: zu viel Gold verklebt die Sinneshaare, ebenso die Sandwichbedampfung (Kohle-Gold-Kohle), zu wenig Gold führt zur Aufladung des Präparates im REM und verursacht erhebliche Störungen des REM-Bildes.

;) REM-Beobachtungs- und Auswertungstechnik

Nach der Bedampfung ist das Präparat fertig für die Betrachtung im REM. In der Gebrauchsanweisung des Mikroskopes ist eine optimale Auflösung bei 45° Neigung zum Elektronenstrahl angegeben. Das ist aber nur für flache Präparate zutreffend. Bei einem konkaven Präparat, aber, wie hier beim Utriculus, kommt es schon ohne Neigung zu einer optischen Überlagerung und Verzerrung nebeneinander gelegener Anteile. Deshalb wurde nur um 30° geneigt, und zwar nach laterocranial, zur, wie unten ersichtlich, interessanten Seite hin (Rampa).

Dabei ist zu beachten, daß das Präparat eventuell schon relativ zum Objekteller geneigt ist. Dieser Winkel ist dann gegebenenfalls dem im REM zu addieren oder davon zu subtrahieren, damit auch hier gleiche Voraussetzungen für alle Präparate gegeben sind. Die gesamte Oberfläche der Macula wurde dann nach Rechtecken des Bildschirms abgetastet: der linke Rand eines Betrachtungsfeldes wurde immer so weit nach rechts verschoben, bis er den rechten Rand des nächsten Bildes bildete. So wurde horizontal eine Reihe nach der anderen angesehen und jeweils am Ende einer Reihe eine Bildschirmbreite nach vertikal verschoben. Von jedem Präparat wurde eine Karte aufgezeichnet, worin die Form der Haarbüschel, ihre Ausrichtung und die relative Dichte verzeichnet wurden. Die Zahl der eingezeichneten Haarbüschel wurde proportional zur wirklichen Anzahl verringert. (In Abb. 3 wiedergegeben). Auf der Karte sind 3 verschiedene Typen von Sinneshaaren zu beachten, die später im Text näher beschrieben werden. An der Seite der Stereocilien (durch einen o gekennzeichnet), an der das Kinocilium steht, wurde ein Strich gezeichnet. Somit ist die Ausrichtung der Sinneshaare leicht zu erkennen. Die eingezeichnete Linie ist die Trennungslinie der Haarbüschelausrichtung. Die Kinocilien wechseln hier ihre Stellung um 180° . Man spricht von "Polarisationslinie" (Abb. 3).

Außerdem wurde nach stereomikroskopischer Beobachtung und Vermessung ein farbiges Tonmodell des Goldfischutriculus und Otolithen angefertigt (Abb. 5 und 6). Da aufgrund der außerordentlichen Härteunterschiede der knöchernen und epithelialen Strukturen, sowie der individuellen Unterschiede die Plattenrekonstruktionsmethode wenig Erfolg versprach, wurde das Modell nach Oberflächenbetrachtungen des Labyrinthes von einem Fisch zunächst im Groben fertiggestellt und danach durch fortgesetzte Korrekturen nach Betrachtungen an weiteren Fischen in seine endgültige Form gebracht. Ein Teil der Ergebnisse der REM-Beobachtungen des Sinnesepithels konnten dann nachträglich mit Farben auf die Maculaoberfläche des Modells eingetragen werden. Als Modellmasse wurde "Keramiplast" verwendet.

E. Ergebnisse

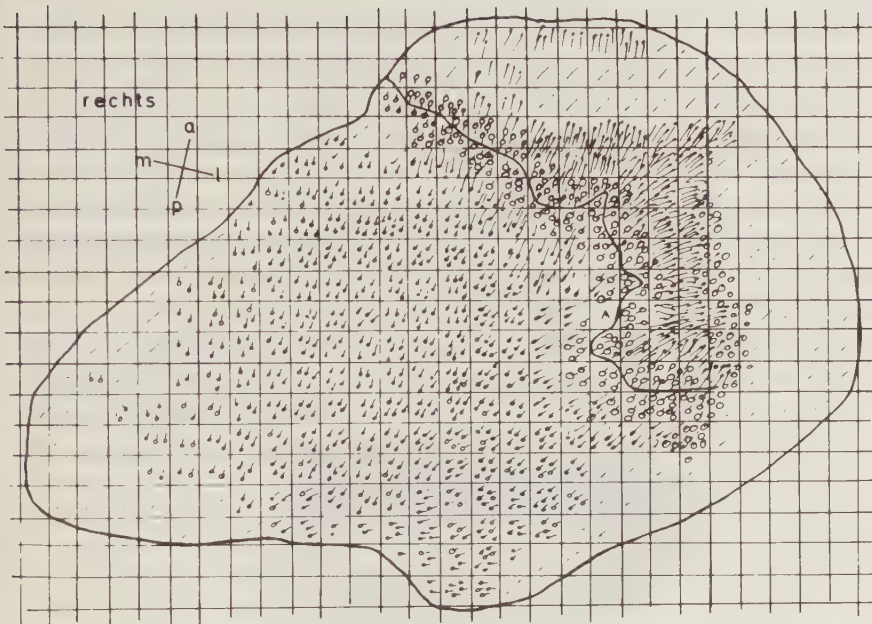


Abb. 3: Karte von einer rechten Macula unter einem Neigungswinkel von 30° nach laterocranial. Jedes Quadrat bedeutet eine Bildschirmbreite. Näheres siehe Text.

l = lateral
m = medial
cr = cranial
c = caudal

/ = Gesamtsinneshaare einer Zelle
wobei o = Stereocilien, Kreisgröße ist proportional zur Anzahl der Stereocilien
und / = Kinocilium je nach Stellung zu den Stereocilien

□/ = keine Sinneshaare

1) Allgemeine Topographie des Goldfischlabirinthes

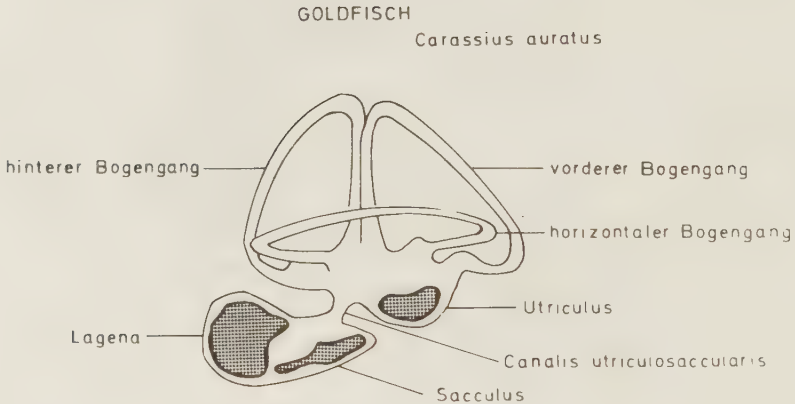


Abb. 4: Schematische Darstellung des Goldfischlabirinthes (8)

Das Labyrinth des Goldfisches (Abb. 4) ist doppelseitig angelegt und, wie schon bei der Präparation erklärt, über der Schädelbasis, in diesem Fall auf dem Oberkiefer zu finden. Der für diese Untersuchungen wichtige Utriculus ist von der Medialseite der Fischkopfhälften leicht zu erreichen. Der Utriculus ist von häutigem Labyrinth wie die übrigen Anteile ausgekleidet, mit Endolymphe angefüllt und in die Schädelbasis eingebettet. Den Boden der Schädelbasis bildet eine konkave Knochenplatte.

Auf der lateralen Seite dieser Fläche erhebt sich eine zweite Knochenplatte. Sie steht senkrecht im Fisch und bildet mit der Längsachse des Fisches einen Winkel von 30° . Beide zusammen bilden eine Art Löffel, in der der Utriculus wie ein Ei liegt. Der Stiel des Löffels ist die laterocranial in den Utriculus mündende Ampulle des vorderen Bogenganges (Abb. 5). Die senkrechte Knochenplatte ist noch zusätzlich ein Schutz nach caudal und lateral. Über den von beiden Knochenplatten gebildeten Winkel spannt sich das Kuppeldach der Labyrinthhaut über den Utriculusboden mit Otolith und der dazwischenliegenden Endolympe und führt weiter über die Ampulle zum vorderen Bogengang. Somit ist der Utriculus wie ein Blindsack zu verstehen, nach hinten medial mit nur einer kleinen Spitze, nach vorne dicker werdend bis zur Ampulle, wo er wieder eingeschnürt wird.



Abb. 5: Foto eines Tonmodells des linken Goldfischutriculus ohne Deckmembran mit Otolith in situ.

Braun: Labyrinthumriß im Knochen, nach rechts Beginn der Ampulle.

Grün: Utriculusepithel.

Der Otolith liegt im Utriculussack der Medialwand und füllt etwa die Hälfte des Sackes aus. Er liegt nur auf der horizontalen Platte und gibt den Raum am oberen Teil der vertikalen Platte frei.

E: 2) Die Macula utriculi des Goldfisches

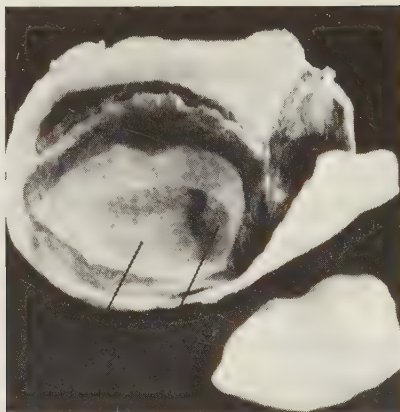


Abb. 6: Foto eines Tonmodells des linken Utriculus. Deckmembran und Otolith sind entfernt. Braun und Grün: siehe Abb. 5. Rot und Blau: Macula utriculi. Dunkelrot und Blau: größte Dichte. Grenze Rot-Blau: Polarisationslinie. Gelb: vom Otolithen bedeckte Fläche, auf der sich kein Sinnesepithel befindet.

E: 2)

a) Lokalisation im Fisch

Die Macula liegt in keiner bestimmten Ebene im Fisch sondern auf einer konkaven Fläche, eben in diesem oben beschriebenen "Löffel" des Utriculus. Bezieht man sich auf die Ränder, so kann man grob sagen, daß die Macula schräg im Fischkopf liegt, und zwar schräg sowohl von lateral vorn nach medial hinten in einem Winkel von 30° zur Längsachse, als auch schräg von cranial nach caudal in einem Winkel von 17° zur Horizontalebene (Längsachse von medial gesehen) (Abb. 7).

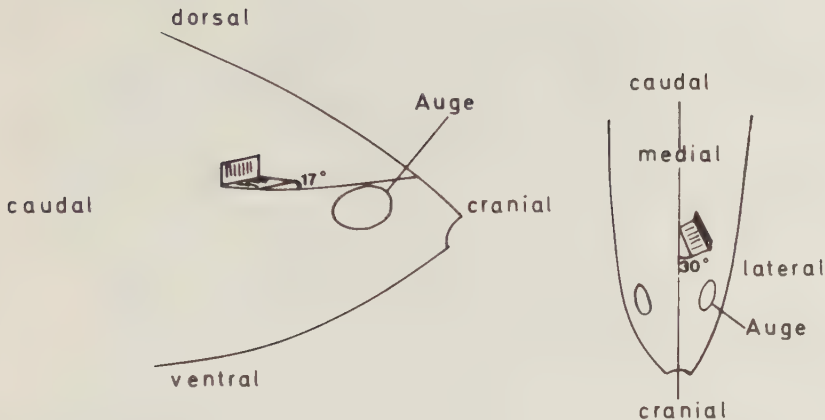


Abb. 7: Schematische Darstellung der Lage des Utriculus bzw. der Macula im Fischkopf.

E: 2)

b) Lage im Utriculus

Im Utriculus nimmt die Macula etwas mehr als die Hälfte des Bodens ein. Sie bedeckt den vorderen Teil davon (Cotilus 22) und einen Teil der daran anstoßenden Wände (Rampa 22). Medial und caudal reicht die Macula nur knapp an die Wände heran. Die senkrecht stehende laterocaudale Knochenplatte ist frei von Maculaepithel.

E: 2)

c) Größe und Form (Beschreibung)

Die Macula ist ein Oval mit glatten Rändern, d.h. sie hat keine Ein- oder Ausbuchtungen. Ihre größte Länge beträgt ca. 1,5 - 2 mm, die größte Breite rund 1 - 1,2 mm. Diese Maßangabe richtet sich natürlich auch nach der Größe des Fisches (Fischlänge 10 - 15 cm).

E: 2)

d) Relative Lage zum Otolithen

Vom Otolithen wird die Macula völlig bedeckt, lateral und cranial allerdings nur knapp, während die medialen und caudalen Anteile überlappend gedeckt sind.

E: 2)

e) Relative Lage zur Richtung der Schwerkraft

In Normallage des Fisches wirkt die Schwerkraft senkrecht zur Horizontalebene des Fisches. Die Lage der Macula im Fisch ist in Kapitel E, Absatz 2 a) beschrieben. Wichtig für diese Fragestellung ist also nur die 17° -Abweichung von der Horizontalebene nach dorsal. Zu beachten ist aber grundsätzlich die Tatsache, daß es sich bei der Macula um ein konkaves Gebilde handelt. Selbst wenn sie völlig waagrecht im Fisch liegen würde, so hätte die Schwerkraft schon dann bezüglich der Macularänder keine senkrechte Wirkung. Die Macula ist aber nun mitsamt ihrer konkaven Struktur um 17° geneigt. Somit werden die caudalen und medialen Anteile in die Waagrechte gerückt, die cranialen und lateralen Wandanteile umso steiler gestellt. Relativ zur Richtung der Schwerkraft bietet also die Macula ein Spektrum von Variationen.

E: 3) Das maculäre Epithel

a) Das Sinnesepithel

aa) Der Übergang vom Rand- zum Sinnesepithel

Das Sinnesepithel der Macula hat im REM besehen ein in verschiedenen Arealen unterschiedliches Aussehen.

Tastet man die Oberfläche vom laterocranialen Rand her ab, also über die Rampa, so stößt man als erstes auf eine Zone von kugelartigen Zellen, die möglicherweise mit den von Lundquist und Flock erwähnten Hensenschen Zellen (16) identisch sind. Es sind über die Oberfläche des Randepithels hinausragende Vorwölbungen, die im REM hell erscheinen. Sie sind in dieser Form nur am Ramparandepithel zu finden. Zwischen den "Kugelnzellen" stehen dann die Sinneshaare. Da die Untersuchung des Macula-Sinnesepithels eine reine Oberflächenbetrachtung ist, kann in dieser Arbeit nichts über die Dicke der unter den Sinneshaaren liegenden Zellen ausgesagt werden. Werner (22) hat aber in seiner Arbeit über die Otolithen von Knochenfischen eine Aufstellung über die Epitheldicken verschiedener Fische gemacht und festgestellt, daß das Sinnesepithel im Bereich der Rampa weitaus dicker ist als in den übrigen Bereichen.

E: 3) ab) Die Sinneszellen mit ihren Sinneshaaren

Die Oberfläche des reinen Sinnesepithels erscheint mit hellen Granula bedeckt, deren Größe etwa 15 nm beträgt. Dazwischen liegen die sogenannten Cuticularplatten der Sinneszelloberflächen; es sind glatte runde Aussparungen in der granulierten Oberfläche. Darauf stehen die Stereocilien, für das Kinocilium ist noch eine eigene halbrunde Ausbuchtung vorhanden, die, was aber nicht immer sichtbar ist, sich leicht nach oben wölbt. Der Durchmesser einer Cuticularplatte beträgt 4 - 6,6 μ . Sie ist nur in der Mitte von Sinneshaaren bedeckt, der Rand bleibt frei und zeigt von oben her gesehen deutlich den Kontrast zur granulierten Umgebung (Abb. 8).



Abb. 8: Oberfläche des Sinnesepithels. Die hellen Büschel sind Sinneshaare. Deutlich sichtbar ist die Granulierung, dazwischen sieht man die runden Aussparungen der Sinneszellen. Die Kinocilien sind kenntlich an ihrer Länge und an der eigenen halbrunden Ausbuchtung. Sie sind durch Pfeile gekennzeichnet. Die eingezeichnete Linie entspricht der "Polarisationslinie", von der aus sich die Stellung der Stereocilien umkehrt.

Auf einer Sinneszelle stehen jeweils ein Kinocilium und eine unterschiedliche Anzahl (20 - 50) Stereocilien, je nach Position auf der Macula. Das Kinocilium, das schon durch Aufbau, Befestigung und Stellung eine besondere Rolle spielt, ist immer das dickste und längste Sinneshaar eines Büschels, die ihm am nächsten stehenden Stereocilien sind von dieser Gruppe wiederum am längsten, je weiter sie vom Kinocilium entfernt stehen, desto kürzer sind sie. Dabei kommt es zu Differenzen innerhalb eines Haarbüschels vom längsten zum kürzesten Stereocilium von maximal $4,5\mu$ und minimal $0,5\mu$. Das Verhältnis vom Kinocilium zum längsten Stereocilium kann von 1:1 bis 4:1 schwanken, je nach Position auf der Macula.

E: 3) ac) Die verschiedenen Typen von Sinneshaaren

Bei der Oberflächenbetrachtung im REM fällt auf, daß die Sinneshaare keinesfalls gleich sind. Man kann sie in drei Typen unterscheiden, die jeweils, wie weiter unten ausgeführt wird, in bestimmten Regionen mit unterschiedlicher Häufigkeitsverteilung anzutreffen sind. Eine zusammenfassende Darstellung der verschiedenen Typen von Sinneshaaren gibt auch die Tabelle S. 26.

Typ 1:

Schmale, lang wirkende Haarbüschel mit einem im Verhältnis zu den längsten Stereocilien 4 mal längeren Kinocilium. Die Stereocilien sind also relativ kurz, nur am Fuß des Kinociliums zu finden und in ihrer Länge untereinander gestaffelt. Ihre Anzahl beträgt 20 - 25 (Abb. 9).



Abb. 9: Sinneshaare vom Typ 1. Beschreibung siehe Text.
(Die Kinocilien sind nicht alle gleich lang -
möglicherweise sind einige der kurzen nur noch
abgebrochene Restkinocilien). Der Vergrößerungs-
maßstab beträgt 1:2000 und ist bei dieser und den
beiden folgenden Abbildungen gleich gehalten.

Typ 2:

Sinneszellen dieses Typs haben relativ dicke, dicht gepackte Sinneshaare mit relativ kurzem Kinocilium (Abb. 10, vergleiche Abb. 9 von Typ 1). Das Kinocilium ist nur maximal doppelt so lang wie die 40 - 50 Stereocilien. Die Längendifferenz der einzelnen Stereocilien ist hier besonders ausgeprägt.



Abb. 10: Sinneshaare vom Typ 2. Das Kinocilium ist immer das längste und dickste Sinneshaar; es ist oft stärker gekrümmt als die Stereocilien. Man beachte wiederum die eingezeichnete Polarisationslinie (siehe Kapitel E: 3, af).

Typ 3:

Auf der größten Fläche der Macula (nicht mit der größten Anzahl) stehen die Sinneshaare vom Typ 3. Es sind kleine, kurze Haarbüschel mit jeweils etwa 30 - 35 Stereocilien, die wohl in ihrer Länge gestaffelt sind, bei denen das Kinocilium aber kaum länger erscheint als das längste Stereocilium (Abb. 11).

E: 3) ad) Die Verteilung der Sinneshaare auf der Macula

Die verschiedenen Typen von Sinneshaaren befinden sich in ganz bestimmten Bereichen der Macula (siehe auch Abb. 3). An der Rampe am Übergang vom Rand- zum Sinnesepithel sind zunächst die kugelförmlichen Zellen; dazwischen tauchen dann die ersten Sinneshaare auf. Es sind die vom Typ 1.

Die erste Zone von Sinneshaaren, die sich parallel der Rampa, also im Halbkreis in die übrige Macula einfügt, hat eine Breite von durchschnittlich 0,24 mm. (Dabei soll der Längsdurchmesser der Macula 2 mm betragen.) (Abb. 15).

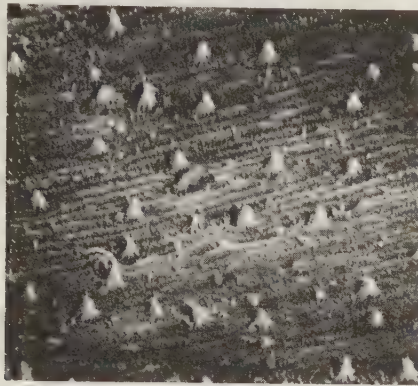


Abb. 11: Sinneshaare vom Typ 3. Auf diesem Foto stehen alle Kinocilien rechts von den Stereocilien. Es verläuft also keine Polarisationslinie durch den gezeigten Ausschnitt.

Daran anschließend folgt die Zone der Sinneshaare vom Typ 2; in ihrem ersten Abschnitt steht das Kinocilium medial und caudal von den Stereocilien, also zur Mitte der Macula hin gerichtet, in ihrem zweiten Abschnitt steht es dem eben genannten gegenüber, also lateral und cranial gerichtet. Zwischen beiden Abschnitten, entlang einer regelrechten Linie, findet also eine Polarisationsänderung statt, d.h. innerhalb des Bereiches des Typs 2. Der Typ von Sinneshaarbüscheln bleibt zu beiden Seiten der Polarisationslinie gleich, nur seine Ausrichtung ändert sich. Der erste Abschnitt ist etwa 0,08 mm, der zweite 0,24 mm breit. Es folgt darauf wieder eine Zone von Sinneshaaren des Typs 1. Das Kinocilium steht jetzt allerdings, gemäß dem Wechsel der Polarisierung dem der ersten Zone gegenüber, also lateral und cranial von den Stereocilien. Diese Zone ist 0,16 mm breit. Von der angenommenen im Längsdurchmesser 2 mm langen Macula sind jetzt 0,72 mm in vier Zonen beschrieben. Den Rest, also rund 2/3 füllen Sinneshaare des dritten Typs aus, kurze, sehr undifferenzierte Sinneshaare.

Typ	Allgemeines Aussehen der Haarbüschel	Mittleres Längen- verhältnis Kinocilium: Stereocilien	Anzahl der Stereocilien	Längstes Stereocilium in μ	Kinociliumlänge in μ	Verhältnis längstes:kürzestes Stereocilium eines Haarbüschels
-----	--------------------------------------	--	----------------------------	--------------------------------------	-----------------------------	--

1	schmal, lang	4 : 1 bis 3 : 1	20 - 25	1,67 - 4,67	4 - 13,3	5 : 1
2	dicht gepackt, plump	2 : 1 bis 1 : 1	40 - 50	2,3 - 5	3 - 8,3	4 : 1
3	klein, kurz	2 : 1 bis 1 : 1	30 - 35	1,67 - 4,67	1,67 - 4,67	2 : 1

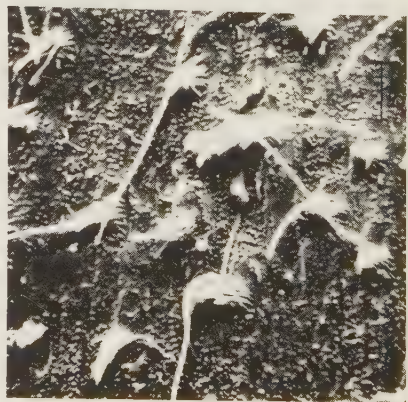


Abb. 12: Sinneshaare vom Typ 1.
Man beachte das lange Kinocilium.



Abb. 13: Sinneshaare vom Typ 2.
Das Kinocilium steht im Bild rechts von den Stereocilien.



Abb. 14: Sinneshaare vom Typ 3.
Die Haarbüschel stehen relativ weit auseinander. Das Kinocilium ist oberhalb der Stereocilien lokalisiert.

Zwischen allen diesen Typen und den dazugehörigen Zonen gibt es Übergangsformen.

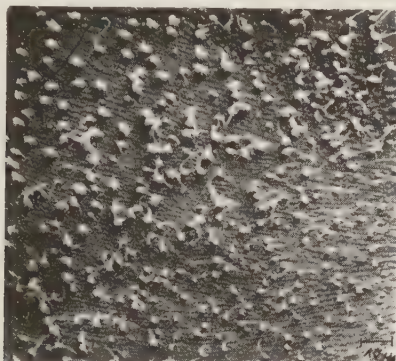


Abb. 15: Das Foto zeigt den Übergang von der Rampa zum Cotilus. Rechts unten im Bild stehen Sinneshaare vom Typ 1; auf der Rampa lokalisiert; das Epithel senkt sich dann sichtbar zum Cotilus. Dort beginnt der Standort der Sinneshaare vom Typ 2. Dazwischen sind Übergangsformen zu sehen. Links oben, innerhalb der Sinneshaare vom Typ 2 verläuft die eingezeichnete Polarisationslinie.

E: 3) ae) Die Dichte der Sinneszellen in verschiedenen Arealen

Während bei der Betrachtung im REM die Macula immer unter einem Neigungswinkel von 30° nach laterocranial, also zur interessanten Seite hin gesehen wurde und dadurch eine optische Verdichtung im entgegengesetzten Teil nicht vermieden werden konnte, wurde die Zählung der Sinneshaare mit möglichst direktem Blick, d.h. mit senkrecht auffallendem Elektronenstrahl durchgeführt.

Von zwei Fischkopfhälften wurden repräsentativ jeweils die längsten Durchmesser abgetastet und ausgezählt. Das erfolgte jeweils auf den Rechtecken der Bildschirme, deren Flächen von $155,25 \text{ cm}^2$ bei 3000-facher Vergrößerung rd. $1732,5 \mu^2$ entsprechen.

Auf 1000 μ^2 umgerechnet ergaben sich folgende Dichten in der laterocranialen nach mediocaudalen Achse:

46,48,41,- 30,19,28,- 26,25,21,- 22,17,22,- 17,18,20,- 17,14,7,-
13,7,3.

Es wurden dabei jeweils drei Felder unter dem selben Neigungswinkel betrachtet.

Für den Querdurchmesser gelten auf 1000 μ^2 folgende Zahlen:

22,22,23,- 21,20,21,- 28,26,24,- 16,15,16,- 12,16,21,- 20,19,16.

Im Falle eines anderen Präparates ergab sich folgende Zählung auf 1000 μ^2 bezogen:

Von laterocranial nach mediocaudal:

57,50,47,- 39,32,34,- 36,27,25,- 25,39,23,- 24,21,22,- 19,13,10,-
7,5.

Von mediocranial nach laterocaudal wurden folgende Dichtewerte gezählt:

23,26,30,- 22,20,19,- 27,26,25,- 21,23,24,- 33,29,22,- 20,19,15.

Danach wurden die Werte der beiden Zählungen gemittelt.

Dabei ergab sich von laterocranial nach mediocaudal:

52,49,44,- 35,26,31,- 31,26,23,- 24,28,23,- 21,20,21,- 18,13,8,-
10,4.

Von den drei Werten eines gemeinsamen Neigungswinkels ergibt das folgende Mittelwerte von zwei Präparaten:

48,31,26,25,21,13,7, als durchschnittliche Dichte von je 1000 μ^2 (Abb. 16).

Ebenso ergab sich von mediocranial nach laterocaudal:

23,24,26,- 22,20,20,- 28,26,25,- 18,19,20,- 23,23,21,- 20,19,16.

Von jeweils drei unter dem selben Winkel gezählten Werten ergab sich folgender Schnitt aus zwei Präparaten:

24,21,26,19,22,18, ebenso als durchschnittliche Dichte auf $1000 \mu^2$ (siehe Abb. 16).

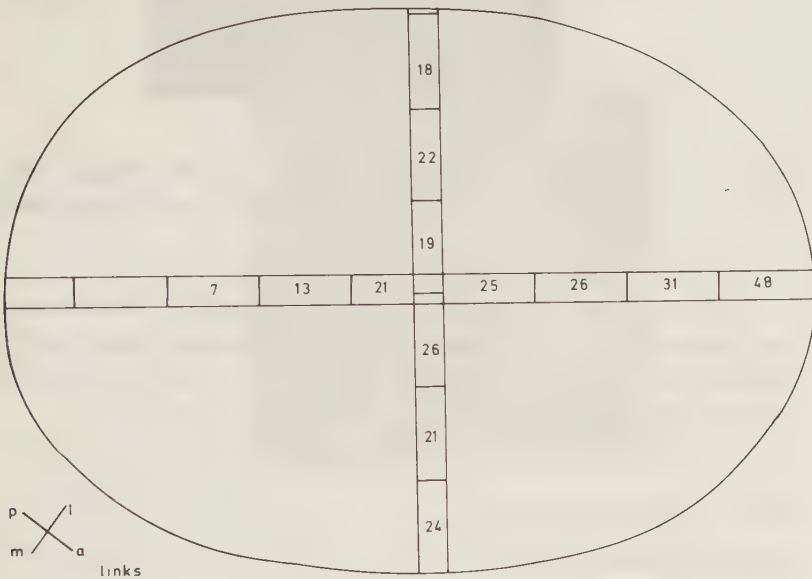


Abb. 16: Dichtewert pro $1000 \mu^2$ auf einer schematisierten Macula eingezeichnet. Die Streifen entsprechen den auf der Macula abgerasterten Achsen.

Aus den Zahlenangaben ist ersichtlich, daß die Sinneshaare auf der großen Fläche des Cotilus nicht sehr dicht stehen (Abb. 17).



Abb. 17: Ausschnitt aus dem Cotilusbereich der Macula bei 1000-facher Vergrößerung. Im Bild sind Sinneshaare vom Typ 3.

Die größte Dichte liegt im Bereich der Rampa, nämlich dort, wo die Sinneshaare der Typen 1 und 2 lokalisiert sind. Wie sich zeigen wird, ist das auch der Bereich, in dem die Polarisationslinie verläuft.

E: 3) af) Die Polarisationslinie:

Begriffserläuterung:

Unter dem Begriff Polarisationslinie versteht man die Ausrichtung der Sinneshaare. Sie sind mit den Stereocilien und einem immer randständigen Kinocilium asymmetrisch und somit polarisiert. Wechselt nun die Position des Kinociliums relativ zu den Stereocilien auf der Maculakarte, so ändert sich auch die Polarisierung.

Beim Goldfisch, so findet man, ist diese Polarisationsänderung sehr abrupt. Wie auch aus den Abbildungen 3, 8, 10, 12, 14, 15, 18 ersichtlich, stehen sich die Kinocilien an der Polarisationslinie genau gegenüber, d.h. dort ist eine Polarisationsänderung von 180° sichtbar. Mit dieser Polarisationsänderung ändert sich natürlich die Ausrichtung der gesamten Sinneszelle. Ein auf sie einwirkender Reiz hätte für sie eine ganz andere Richtung als für eine benachbarte Zelle mit anderer Polarisation und deshalb sähe auch die Reizbeantwortung dieser Zelle ganz anders aus. Bei der einen kann derselbe Reiz excitatorisch, bei der anderen mit anderer Polarisation inhibitorisch wirken. Die Polarisationsänderung und somit die Linie, an der sie stattfindet, ist also ein wichtiges Phänomen für die Reizaufnahme.



Abb. 18: Ausschnitt aus der Macula im Bereich der Sinneshaare vom Typ 2. Die eingezeichnete Linie zeigt an, wo sich die Ausrichtung der Sinneshaare (Polarisation) ändert. Es ist die Polarisationslinie.

E: 3) af) Die Polarisationslinie: Die Lage auf der Macula

Beim Goldfisch zieht die Polarisationslinie über die gesamte Breite der Macula, und zwar noch im Bereich der Rampa, dort, wo die Sinneshaare vom Typ 2 lokalisiert sind, innerhalb ihrer Zone. Sie ist deutlich zu verfolgen, da die Position des Kinociliums so abrupt wechselt. So teilt sich die Macula in zwei, möglicherweise in zwei funktionell verschiedene Abschnitte.

Der oberhalb der Polarisationslinie gelegene Teil liegt ganz auf der Rampa der Macula, grenzt an die Übergangszone der kugelähnlichen Zellen und mißt an seiner breitesten Stelle etwa 0,4 mm. In diesem Teil ist das Kinocilium der Sinneshaare 1 und 2 zur Mitte der Macula hin gerichtet. Da diese Zone halbkreisförmig angelegt ist und das Kinocilium von jeder Position der Sinneshaare zur Mitte hin gerichtet ist, steht es medial und caudal von den Stereocilien.

Der zweite Teil der Macula ist der größere, umfaßt 1,6 mm in der Längsausdehnung und bedeckt den gesamten Boden der Macula, sowie den unteren Teil der Rampa. Auf ihm stehen die Kinocilien mit geringen Abweichungen lateral bis cranial von ihren Stereocilien, also contraire zu den anderen. Es sind Sinneshaare vom Typ 1, 2 und 3.

Schwierig ist es, eine Standardlinie für alle gesehenen Präparate gemeinsam zu erstellen; denn der Verlauf der Linie, wie auch der knöchernen Umrandung der Macula ist beachtlichen individuellen Schwankungen unterworfen. Man kann aber generell sagen, daß der Verlauf der Polarisationslinie etwa einem Halbkreis entspricht: von cranial nach laterocaudal, wobei die caudale Richtung nur gestreift wird.

Dabei sind zwei Hauptwindungen zu erkennen: von medial nach lateral gesehen, erfolgt erst eine Windung nach cranial, die zweite Hälfte der Polarisationslinie windet sich nach caudal.

Dieses Ergebnis ist dem der Untersuchungen von Åke Flock (4) am Fisch *Iota vulgaris* sehr ähnlich.

Die Lage der Polarisationslinie in Relation zum Otolithen

Die Polarisationslinie in Relation zum Otolithen zu beurteilen, ist sehr schwierig, da dieser der Macula aufliegt und entfernt werden muß, sobald sie besehen werden soll. Da der Otolith aber der Rampa aufliegt oder besser anliegt und sie mit dem Bogen seiner Wölbung überdeckt, ist zu folgern, daß er dort, wo er am dicksten und schwersten ist, über der Polarisationslinie liegt (siehe dazu E: 4).

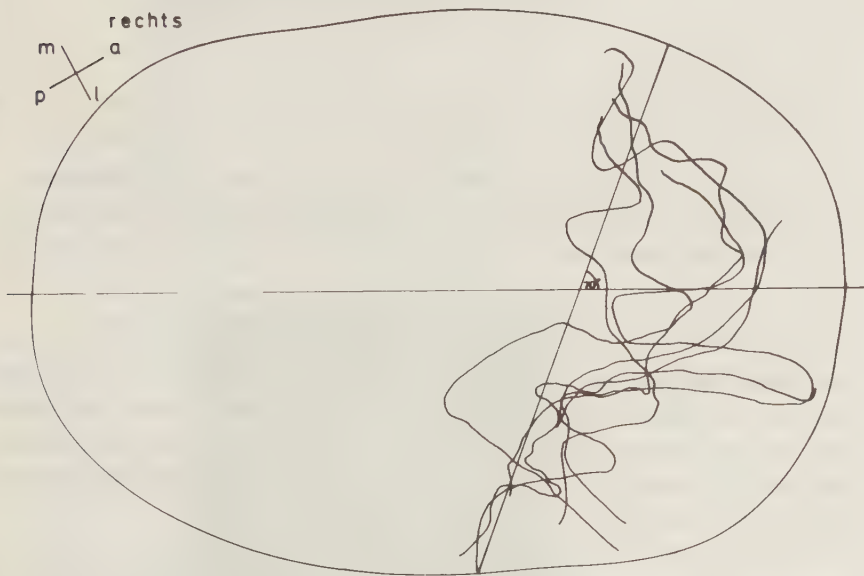


Abb. 19: Schema einer rechten Macula mit allen bei rechtsseitigen Präparaten gefundenen Polarisationslinien eingezeichnet. Die Längsachse der Macula ist eingetragen. Dazu steht eine willkürlich gezogene Linie, die Anfang und Ende der Polarisationslinien verbindet im Winkel von 70° .

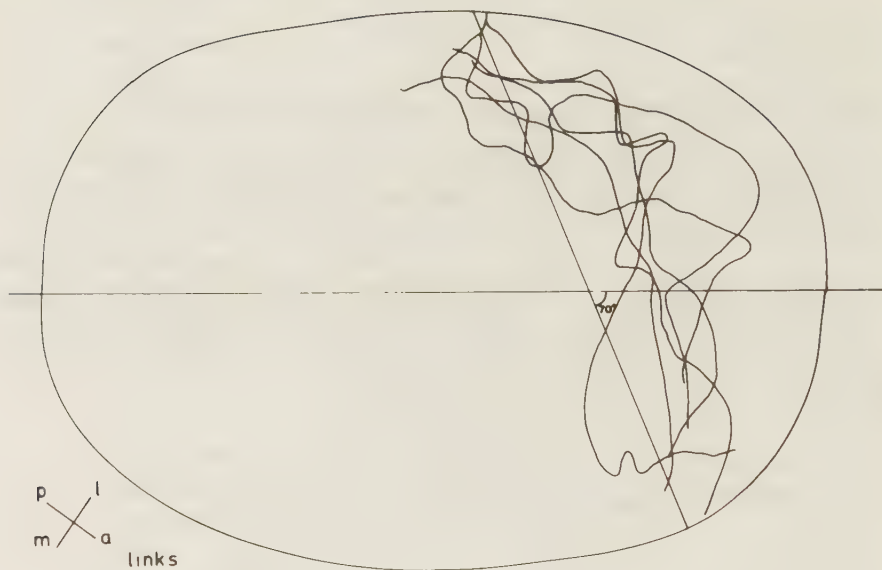


Abb. 20: Schema einer linken Macula mit allen bei linksseitigen Präparaten gefundenen Polarisationslinien eingezeichnet. Für weitere Erklärungen siehe Abb. 19.

3) b) Das Randepithel

Das Randepithel zeichnet sich gut erkenntlich vom Sinnesepithel ab. An der Rampa ist der Übergang sehr deutlich durch die Kugelnzellen gekennzeichnet (Abb. 21). Medial zeigt sich das Randepithel völlig ungranuliert und ist deshalb gut vom Sinnesepithel zu unterscheiden.

Besonders im caudalen und lateralen Bereich sind große Teile des Utriculus nicht von Sinnesepithel bedeckt. Dort in einem granulierten Feld zeigen sich in fast regelmäßigen Abständen im Durchmesser 5 μ große, runde, körnige und faserige Gebilde, die möglicherweise die Oberfläche besonderer Zellen unbekannten Typs im Gewebeverband darstellen.

Ansatzpunkte für einen Aufhängungsapparat des Otolithen wurden in dieser Untersuchung nicht erarbeitet.

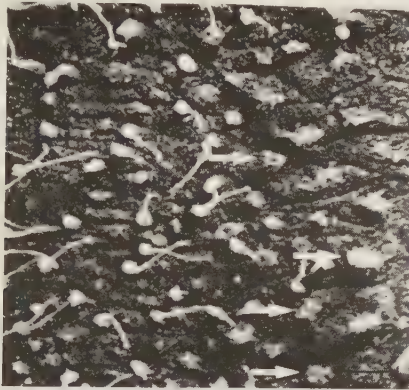


Abb. 21: Übergang vom Randepithel zum Sinnesepithel im Bereich der Rampa. Sinneshaare der Gruppe 1 sind links im Bild sichtbar, rechts der Pfeil zeigt die Kugelzellen (vielleicht identisch mit den von Lundquist und Flock (16) beschriebenen Hensen'schen Zellen).



Abb. 22: Randepithel im caudalen Bereich des Utriculus.

E: 4) Der Utriculus-Otolith

a) Form, Größe und Beschreibung (Abb. 23, 24)

Der Otolith hat von oben gesehen mit 4 Ecken ungefähr eine trapezoide Form. Die mediale Seite ist die längste und konvex gekrümmt. Die ihr etwas parallele Lateralseite ist stark konkav gekrümmt und nur so kurz wie die anderen beiden Seiten des Trapezes. Es ist die der senkrechten Knochenlamelle anliegende Seite. Die anteriore Seite ist konvex nach cranial gekrümmt und von 2 abgerundeten Ecken begrenzt.

- 1 = cranial
- 2 = lateral
- 3 = caudal
- 4 = medial



Abb. 23: Rechter Otolith in situ bei 30-facher Vergrößerung im REM. Die kristallähnlichen Gebilde sind wahrscheinlich Ausfällungen der Fixierlösung. Es handelt sich um einen rechten Utriculus.

Die ihr gegenüberliegende posteriore Seite ist in etwa geradlinig und verläuft von oben gesehen in etwa 90° -Richtung zur Sagittalebene. Die caudomediale Ecke hat also, rechnet man den Lagewinkel des ganzen Utriculus von 30° nach lateral von der Sagittalebene ab, einen Winkel von 60° .

Insgesamt wurden 14 Otolithen vermessen. In der Längsausdehnung mißt der Otolith zwischen 1,7 und 2,4 mm, in der Breite 1,15 - 1,3 mm. Von der Seite gesehen (Abb. 24) hat der Otolith auf der Ventralseite eine klare ebenmäßige konvexe Wölbung.

Die Dorsalseite zeigt zwei Wölbungen: Im vorderen lateralen Bereich eine stark konvexe, im medioposterioren eine ganz schwach konkave, die fast nur als Waagrechte zu erkennen ist. Die größte Masse des Otolithen liegt also in seinem laterocranialen Teil, also über der Rampa.

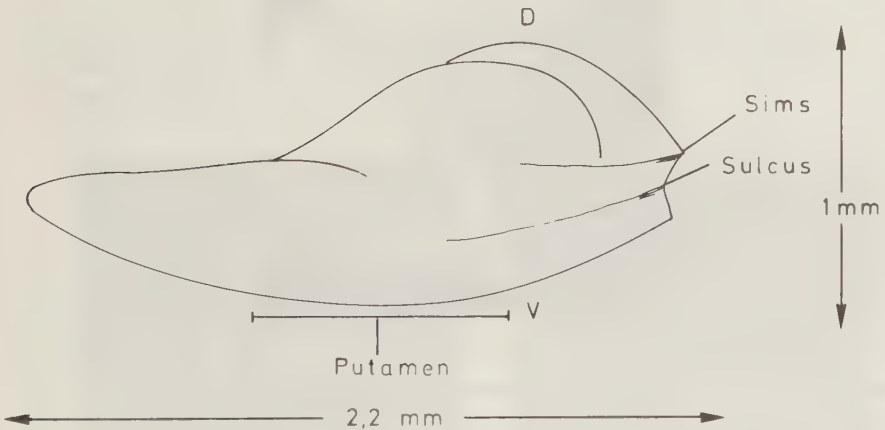


Abb. 24: Schematisierter rechter Otolith von der lateralen Seite gesehen.

D = Dorsal
V = Ventral

Die Dicke des Otolithen beträgt dort etwa 1 mm. In dieser Region fällt noch eine Besonderheit auf: der anteriore Rand zeigt an der Ventralseite eine Einkerbung (Sulcus) der halbkreisförmig über der gesamten Breite des Otolithen verläuft, darüber zur Dorsal-seite hin, erhebt sich ein überhängendes Sims. Dort, so glaubte Werner (22) schon 1928, könnte der Otolithenaufhängungsapparat in den Otolithen einstrahlen. Vom Sims aus steigt die dorsale Wölbung wie ein Berg auf und fällt zur Hälfte des Otolithen wieder nach medial und caudal ab um in einer leicht konkaven Rundung zu enden. Die Ventralseite des Otolithen ist in einem ziemlich runden in der Mitte liegenden Bereich fein gekörnt und nicht glatt wie die übrigen Oberflächen.



Abb. 25: Ventralseite des Otolithen im REM bei 100-facher Vergrößerung.

Diese raue Fläche nannte Werner (22) Putamen. Sie entspricht dem Cotilus der Macula, über dem sie liegt. Oft sind bei der Betrachtung im REM Kristalle gesehen worden, und zwar sowohl auf der Ventral- als auch auf der Dorsalseite. Sie haben aber keine regelmäßige Lokalisation, Anordnung oder Häufigkeit. Wahrscheinlich handelt es sich um Ausfällungen der Fixierlösung.

E: Diskussion der Ergebnisse

Es soll zunächst eine kritische Betrachtung der hier vorgelegten eigenen Ergebnisse vorgenommen werden, um etwaige Fehlerquellen nicht zu übersehen.

Auch bei schonendster Präparation läßt es sich manchmal nicht vermeiden, daß das Epithel der Macula gezerrt wird und Teile davon abreißen. Es ist dann nicht immer sicher zu beurteilen, ob die Macula vollständig erhalten ist. Auch wenn sich Teile des Epithels eingerollt haben, was nicht immer auszuschließen ist, so ist das Bild der Macula unvollständig. Ebenso könnte es sich dabei aber um eine individuelle Besonderheit handeln, und nicht um ein Artefact.

Ein Fehler, der sich auf die Dichtezipfer auswirkt, ist das mögliche Übersehen ab- oder herausgerissener Sinneshaare (Abb. 26, 27).

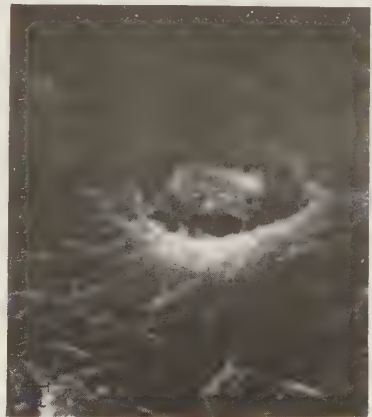
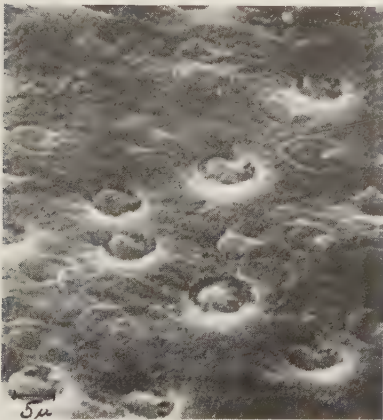


Abb. 26, 27: Teil des maculären Epithels mit herausgerissenen Sinneshaaren bei 3000- und etwa 8000-facher Vergrößerung. Unter den runden Strukturen befinden sich die Sinneszellen.

Es ist denkbar, daß Sinneshaare nicht nur völlig, sondern auch stückweise abbrechen oder abreißen. Dabei könnten falsche Werte besonders bei den Längenangaben der Kinocilien resultieren.

Die Betrachtung der Sinneshaare konnte auch immer nur aus einer Richtung erfolgen. Bei dieser Einseitigkeit könnten in vereinzelt Fällen Verwechslungen des Kinociliums mit einem langen Stereocilium vorgekommen sein. Manche Sinneshaarbüschel konnten nicht von allen Seiten, besonders nicht von oben betrachtet werden. Es ist also möglich, daß vereinzelt Zellen mit zwei Kinocilien vorgekommen sind, die von uns gar nicht registriert wurden.

Die hier aufgezählten Fehler sind im Einzelfall nicht von uns als solche identifiziert worden, sie sind aber denkbar. Bei dem vorhandenen Zwischenraum zwischen Otolith und Macula (Werner 22) ist es aber unwahrscheinlich, daß solche "Abreißartefakte" systematisch, d.h. bevorzugt regional vorkommen. Die Mitteilung der Ergebnisse aus Beobachtungen von 13 Maculae läßt die beschriebenen Fehler nach unserem Ermessen ohne wesentliche Bedeutung für Typologisierung und Dichtermittlung.

Die von uns am Goldfisch gefundenen Haarzelltypen und die Polarisationslinie passen gut zu entsprechenden Befunden an anderen Fischen und am Seidenäffchen (squirrel monkey).

An *Lampetra fluviatilis* (Neunauge) haben Lowenstein, Osborne und Thornhill (14) zwei Typen von Haarzellen unterschieden: Der von ihnen beschriebene erste Typ mit einem 3 - 5 μ langen Kinocilium, welches aber kaum länger als die ihm benachbarten Stereocilien sei, entspricht in etwa dem von uns als Typ 3 bezeichneten. Der Typ 2 von *Lampetra fluviatilis* mit einem etwa 10 μ langen Kinocilium und 1,5 μ langen Stereocilien deckt sich ungefähr mit dem von uns beschriebenen Typ 1. Die Unterschiede in der Numerierung der Haarzelltypen ergeben sich offensichtlich von der Systematik. Während wir von der Rampa zum Cotilus vorgegangen sind, und die zuerst gesehenen Haarzellen als Typ 1 bezeichnet haben, als Typ 2 und 3 die örtlich folgenden, so mag Lowenstein von der größten Anzahl oder sonstigen uns nicht bekannten Kriterien ausgegangen sein.

Beim Goldfisch ist von uns noch ein weiterer Typ von Haarbüscheln registriert worden, der hier als Typ 2 bezeichnete, kenntlich durch besonders zahlreiche Stereocilien und durch seine gedrungene Form.

Übereinstimmungen gibt es auch zwischen der von Flock (4) am *Lota vulgaris*, von Spoendlin (21) am Seidenäffchen und der von uns am Goldfisch untersuchten Polarisationslinie. Ihr Verlauf auf der *Macula utriculi* entspricht in allen Fällen einem Halbkreis. Lediglich der Anfang der Polarisationslinie liegt beim Goldfisch mehr cranial bis medial, das Ende desto weniger caudal als bei den anderen genannten Spezies.

Beim Versuch der Funktionsdeutung der Polarisationslinie soll hier von zwei Gegebenheiten ausgegangen werden.

- 1) Die oben erwähnte (Seiten: 5, 6, 7) Umkehrung der Erregbarkeitsverhältnisse (Hemmung und Erregung) bei Umkehrung der Richtung der Kinocilienauslenkung. (Literatur 12, 4, 13).
- 2) Der auch hier am Goldfisch bestätigte Befund in Übereinstimmung mit den Befunden am *Lota vulgaris* (4) und am Seidenäffchen (21), daß die Polarisationslinie halbkreisförmig verläuft oder zumindest bei welligem Verlauf alle Positionen eines Halbkreises beinhaltet.

Aufgrund dieser elektrophysiologisch und durch rasterelektronenmikroskopische Beobachtungen gut gestützten Gegebenheiten erscheint die Lage- und vielleicht auch Bewegungsrezeption, soweit durch den Otolithenapparat verursacht, auf ökonomischste Weise möglich: Es gibt keine Lage, bei der nicht wenigstens einige Sinneszellen erregt, d.h. nicht wenigstens einige Kinocilien von ihren Stereocilien hinweg abgelenkt werden. Selbst in Rückenlage des Fisches wäre die stereofugale Ablenkung noch gewährleistet, da ein Teil der Sinneshaare auf dem schrägen Anteil der *Macula*, der *Rampa*, lokalisiert ist. Auf diesen schrägen Anteil treten Scherungskräfte auf, solange er nicht rechtwinklig zur Schwerkraft steht.

Eine andere wichtige, aber noch ungelöste Frage betrifft die der mechanischen Koppelung zwischen Otolith und Sinnesepithel.

Die alte Scherungstheorie von Breuer (2) ist gegenüber der Zugtheorie von Magnus (17) inzwischen durch neuere Untersuchungen (z.B. Lowenstein (10) und v. Holst (9)) an Fischen gut gestützt worden. Eine reine Drucktheorie ist aufgrund anatomischer Gegebenheiten von Werner (22) für unwahrscheinlich gehalten worden. Nach Békésy 1966 (1) jedoch müssen Druck und Scherung im Otolithensystem immer nur als vektorielle Komponenten der Schwerkraft angesehen werden: dort, wo ein Druckgradient besteht, treten auch Scherkräfte auf.

Ungeklärt bleibt dabei aber noch, ob der sich bewegende Otolith die Sinneshaare infolge direkter Verwachsung mit ihnen verschiebt oder, ob direkter mechanischer Druck auf die Sinneshaare eine Rolle spielt oder welche Möglichkeiten sonst noch infrage kommen.

Zu diesem Problem mag die hier vorliegende Untersuchung weitere Anregungen bringen: Im Rampagebiet sind Kinocilien registriert worden, die so lang und dünn sind, daß sie wohl kaum das Gewicht des Otolithen tragen und sich dabei noch verschieben könnten.

Es ist wesentlich leichter, sich hier eine hydrodynamische Beeinflussung vorzustellen. Diese sehr langen Kinocilien, die sich bereits unter dem Druck des Elektronenstrahls im REM bewegen, würden leicht durch schon geringfügige Flüssigkeitsverschiebungen bewegt. Diese Hypothese stünde in gutem Einklang mit der Tatsache, daß Kinocilien auch an mehreren anderen Orten Strömungsrezeptoren sind, z.B. am Seitenlinienorgan der Fische.

An anderer Stelle des Maculaepithels sind die Sinneshaare kürzer und viel kräftiger ausgebildet, so daß es hier denkbar ist, daß sie in großer Anzahl den Otolithen tragen könnten, zumal dessen aktuelles Gewicht ja um den Auftrieb der ihn umgebenden Flüssigkeit verringert ist. (Das spezifische Gewicht von Otolith und der ihn umgebenden Flüssigkeit ist von uns nicht bestimmt worden).

Eine Funktionsteilung der Macula in hydrodynamische Strömungsrezeptoren und "Otolithen-Reibungsrezeptoren" läßt sich natürlich erst treffen, wenn mehr relevante Informationen vorliegen über Funktionsäußerungen, mit natürlichen und artifiziellen Reizen hervorgerufen.

Zusammenfassung

Die Macula Utriculi ist eine löffelförmige Epithelschicht auf dem Boden des Utriculus. Sie ist vom Utriculolith bedeckt und mit ihm und der den Otolithen umgebenden Endolymphe von einem Sack des häutigen Labyrinthes eingeschlossen.

Im Epithel der Macula liegen Sinneszellen in unterschiedlicher Dichte, deren Fortsätze, die Sinneshaare, als Oberflächenstruktur bei der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung sichtbar sind. Die Sinneshaarbüschel kann man nach ihrem Aussehen in drei Typen einteilen. Sie bestehen immer aus einem langen beweglichen Sinneshaar, dem Kinocilium und je nach Typ aus 20 - 50 starren Sinneshaaren, den Stereocilien. Die verschiedenen Typen unterscheiden sich auch durch das Längenverhältnis von Kinocilium zu Stereocilien und die absolute Länge der Sinneshaare. Unabhängig von der Typisierung können die Sinneshaarbüschel auch nach ihrer Polarisierung unterschieden werden. Diese betrifft die Stellung des Kinociliums zu den Stereocilien. In den caudalen 4/5 der Macula steht das Kinocilium cranial von den Stereocilien. Dann, regelrecht entlang einer Linie, wechselt die Polarisierung und das Kinocilium steht im cranialen Fünftel caudal von den Stereocilien. Die Linie, an der sich die Polarisierung ändert, heißt Polarisationslinie.

Das Wissen um ihre Lage und ihren Verlauf ist wichtig für das Verständnis der Lage- und Bewegungsrezeption, angenommen sie sei durch den Otolithen verursacht; in jeder Lage werden wenigstens einige Sinneszellen erregt, nämlich, indem das Kinocilium von den Stereocilien hinweg bewegt wird.

Es muß Aufgabe weiterer Forschungen sein, zu ermitteln, inwieweit die in dieser Arbeit erworbenen Kenntnisse über die Ultrastruktur der Macula Utriculi zur Aufklärung der spezifischen Reizübertragung im Utriculus beitragen können.

Hierzu gehört insbesondere:

Abstand des Otolithen in situ von den verschiedenen Macula-regionen, Art und Geometrie des Otolithen-Aufhängungsapparates, Schwerpunktlage des Otolithen in situ, Ausmaß der in situ möglichen Otolithendislokation.

Es ist zu hoffen, daß diese Informationen durch künftige Arbeiten zur Verfügung gestellt werden. Die hier vorliegende Arbeit, die sich vor allem auf die Typologisierung und Verteilung der Sinneshaarzellen beim Goldfisch beschränkt, könnte dann in größerem Zusammenhang gesehen werden.

L i t e r a t u r

- 1) v. BÉKÉSY, G.
Pressure and Shearing Forces as Stimuli of Labyrinthine Epithelium
Arch. Otolaryngol, Vol. 84 1966, 63
- 2) BREUER, J.
Über die Funktion des Otolithenapparates
Pflueger Archiv Ges. Physiologie, Vol. 48, 1891
- 3) ENGSTRÖM, H., ADES, H.W. und HAWKINS, J.E. jr.
Structure and Funktions of the Sensory Hairs of the Inner Ear
The Journal of the Acoustical Society of America, Vol. 34, 1962,
Nr. 8 Part 2, 1356 - 1363
- 4) FLOCK, A., M.B.
Structure of the Macula Utriculi with Special Reference to the Directional Interplay of Sensory Responses as Revealed by Morphological Polarisation
Journal of Cell Biology, Vol. 22, 1964, 413 - 431
- 5) FRISHKOPF, L.S. und FLOCK, A.,
Ultrastructure of the Basilar Papilla, an Auditory Organ in the Bullfrog
Acta Otolaryngy 77, 1974, 176 - 184
- 6) FROMME, H.G., PFANTSCH, M., PFEFFERKORN, G. und BYSTRICKY, V.
Die "Kritische Punkt"-Trocknung als Präparationsmethode für die Rasterelektronenmikroskopie
Microscopica Acta, Band 73, 1972, Heft 1, 29 - 37
- 7) HILLMAN, D.E. und LEWIS, E.R.
Morphological Basis for a Mechanical Linkage in Otolithic Receptor Transduction in the Frog
Science, Vol. 174, 1971, 416 - 419

- 8) HOAR, W.S. und RANDALL, D.J.
The Nervous System, Circulation, and Respiration in:
Fish Physiology, Vol. IV
Academic Press, New York and London 1970
- 9) v. HOLST, E.
Die Arbeitsweise des Statolithenapparates bei Fischen
Zeitschrift für vergleichende Physiologie,
Band 32, 1950, 60 - 120
- 10) LOWENSTEIN, O.
The Effect of Galvanic Polarization on the Impulse Discharge
from Sense Endings in the Isolated Labyrinth of the Thornback Ray
(*Raja clavata*)
J. Physiology 127, 1955, 104 - 117
- 11) LOWENSTEIN, O. und WERSÄLL, J.
A Funktional Interpretation of the Elektron-Microscopic
Structure of the Sensory Hairs in the Cristae of the Elasmobranch
RAJA CLAVATA in Terms of Directional Sensitivity
Nature, 184, 1959, 1807
- 12) LOWENSTEIN, O., F.R.S., OSBORNE, M.P. und WERSÄLL, J.
Structure and Innervation of the Sensory Epithelia of the
Labyrinth of the Thornback Ry (*RAJA CLAVATA*)
Proc. Roy. Soc. London, Vol. 160, 1964, 1 - 12
- 13) LOWENSTEIN, O.
The Concept of the Acousticolateral System
Lateral Line Detectors, Indiana University Press (c), 1967, 3 - 12
- 14) LOWENSTEIN, O., F.R.S., OSBORNE, M.P. und THORNHILL, R.A.
The Anatomy and Ultrastructure of the Labyrinth of the Lamprey
(*LAMPETRA FLUVUATILIS*)
Proc. Roy. Soc. London, B 170, 113 - 134
- 15) LOWENSTEIN O., F.R.S. und THORNHILL, R.A.
The Labyrinth of MYXINE: Anatomy, Ultrastructure and Elektro-
physiology
Proc. Roy. Soc. London, B 176, 1970, 21 - 42

- 16) LUNDQUIST, P.G., FLOCK, A. und WERSÄLL, J.
Raster- und Elektronenmikroskopie des menschlichen Labyrinthes
Monatsschrift für Ohrenheilkunde und Laryngo-Rhinologie
Sonderdruck, Heft 7, 105. Jahrgang
Verlag Urban und Schwarzenberg, Wien 1971, 285 - 300
- 17) MAGNUS, R.
Körperstellung
Berlin, Springer-Verlag 1924
- 18) MANNING, F.B.
Hearing in the Goldfish in Relation to the Structure of its Ear
Journal of experimental Zoology (1924/25)
- 19) MAXWELL, S.S.
Labyrinth and Equilibrium
Verlag: Lippincott Philadelphia und London 1923
- 20) REIMER, L. und PFEFFERKORN, G.
Raster- und Elektronenmikroskopie
Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1973, 226
- 21) SPOENDLIN, H.H.
Ultrastructural Studies of the Labyrinth in Squirrel Monkeys
The Role of the Vestibular Organs in Exploration of Space
Pensacola, Florida 1965, 7
- 22) WERNER, C.F.
Studien über die Otolithen der Knochenfische
Zeitschrift Zoologie, 131, 1928, 502 - 587
- 23) WERSÄLL, J., FLOCK, A. und LUNDQUIST, P.G.
Structural Basis for Directional Sensitivity in Cochlear and
Vestibular Sensory Receptors.
Cold Spring Harbor Symposia on quantitative Biology, Vol. XXX,
1965, 115 - 132

24) WOLF, K.

Physiological Salines for Freshwater Teleosts
Progressive Fish Culturists, 25, 1963, 135 - 140

25) WURMBACH, H.

Lehrbuch der Zoologie II
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1962, 548

Zur Kenntnisnahme

Hiermit möchte ich mich bei den Personen bedanken, die mir bei meiner Arbeit behilflich waren.

Herrn Dr. von Baumgarten, Professor für Physiologie, danke ich besonders für seinen Rat, was wissenschaftliches Vorgehen und die Effektivität der Versuche betrifft, Frau Brigitte Grötzebach für ihre allzeitige Hilfsbereitschaft und Ausdauer und ihre Beratung in technischen Dingen.

Lebenslauf

- 1950 am 2.5. wurde ich, Erika Klüpfel, als zweite Tochter des Johannes Klüpfel und seiner Frau Steffi, geb. Huhn, in Wiesbaden-Sonnenberg geboren.
- 1956 im April wurde ich in die Diesterwegschule, Volksschule, eingeschult
- 1960 setzte ich meine Ausbildung in der Wilhelm-Heinrich-von Riehl-Schule, Realschule, fort.
- 1966 absolvierte ich die mittlere Reife und trat anschließend in die Helene-Lange-Schule über, ein Gymnasium für Mädchen. Dort besuchte ich den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig.
- 1968 schon, bedingt durch zwei Kurzschuljahre, erhielt ich die Hochschulreife.
- Im August des selben Jahres reiste ich nach Amerika. Ich hatte vom American Field Service ein Stipendium für ein Jahr bekommen. In Westport, Conn., lebte ich in einer amerikanischen Familie und besuchte die dortige Highschool.
- 1969 erhielt ich von der Stapels Highschool die amerikanische Hochschulreife.
- Zurückgekehrt nach Deutschland immatrikulierte ich mich an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz in den Fächern Mathematik und Physik.
- 1970 nach zwei Semestern wechselte ich die Fakultät und begann mit dem Studium der Medizin. Die 2 Semester Mathematik und Physik wurden für das Studienfach Medizin angerechnet.
- 1971 im März bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung,
- 1972 im April die ärztliche Vorprüfung,
- 1975 im Frühjahr werde ich voraussichtlich das Staatsexamen im Fach Medizin ablegen.

